

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

OTALÍCIO DAMÁSIO DA COSTA JÚNIOR

INFLUÊNCIA DA SACAROSE NA ACLIMATIZAÇÃO DE *Epidendrum cinnabarinum*
Salzm. ex Lindl. (ORCHIDACEAE) EM SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

AREIA – PB

2018

OTALÍCIO DAMÁSIO DA COSTA JÚNIOR

INFLUÊNCIA DA SACAROSE NA ACLIMATIZAÇÃO DE *Epidendrum cinnabarinum*
Salzm. ex Lindl. (ORCHIDACEAE) EM SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro de Ciências Agrárias, Universidade
Federal da Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Licenciado em Ciências
Biológicas.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a Núbia Pereira da Costa Luna

Areia – PB

2018

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

C837i Costa Júnior, Otávio Damásio da.
Influência da sacarose na aclimatização de *Epidendrum cinnabarinum* Salzm. ex
Lindl. (Orchidaceae) em substratos alternativos / Otávio Damásio da Costa Júnior. -
Areia: UFPB/CCA, 2018.
38 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Centro de
Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2018.

Bibliografia.

Orientadora: Núbia Pereira da Costa Luna.

1. Orquídeas – Substratos alternativos 2. Família orchidaceae – Aclimatização 3.
Epidendrum cinnabarinum Salzm – Potencial ornamental I. Luna, Núbia Pereira da
Costa (Orientadora) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 582.594

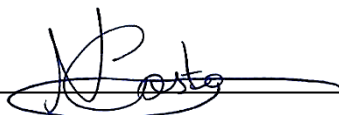
OTALÍCIO DAMÁSIO DA COSTA JÚNIOR

INFLUÊNCIA DA SACAROSE NA ACLIMATIZAÇÃO DE *Epidendrum cinnabarinum*
Salzm. ex Lindl. (ORCHIDACEAE) EM SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

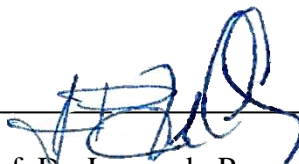
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro de Ciências Agrárias, Universidade
Federal da Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Licenciado em Ciências
Biológicas.

Aprovado em 30 de janeiro de 2018

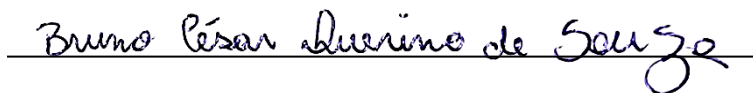
BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Núbia Pereira da Costa Luna
Orientadora – DCFS/CCA/UFPB



Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix
Examinador – DCB/CCA/UFPB



Prof. Dr. Bruno César Querino de Souza
Examinador

*Dedico à minha mãe, Maria
Sofange, ao meu pai Otacílio Damásio
e aos meus irmãos, Bruno e Brena.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças para que pudesse permanecer firme durante toda a caminhada diante das dificuldades que surgiram ao longo do curso.

Aos meus pais, Maria Solange Barbosa de Araújo Costa e Otacílio Damásio da Costa, exemplos de garra e perseverança, agradeço por sempre me incentivarem, mostrando que o estudo é o melhor caminho a se seguir.

Aos meus irmãos, Bruno de Araújo Costa e Brena de Araújo Costa, pelo apoio e por acreditarem em mim.

Agradeço imensamente a professora Núbia Pereira da Costa Luna, por ter me dado a oportunidade de estagiar no Laboratório de Biologia Celular e Cultura de Tecidos Vegetais, pelos ensinamentos, confiança e pelos conselhos dados, os quais irei carregar por toda a vida.

À Adriana e Cosmo, por sempre se disporem a ajudar quando precisei durante a minha passagem pelo laboratório.

A todos os meus colegas de laboratório, em especial, Lucinalva Azevedo e Sabrina Santos, a quem sou imensamente grato pelo companheirismo e aprendizado.

Ao professor Walter Pereira, por sempre se dispor a realizar as análises estatísticas necessárias aos trabalhos.

A todos os meus colegas da turma, em especial, Sônia Lopes, Mércia Inara, Rosângela Miranda, Cleide Medeiros, Pricilla Borges, Leiliane Dias, Thais Vitoriano, Rogério Pereira, Lucimere e ao meu grande companheiro de guerra Carlos Antônio, pessoas incríveis com quem pude compartilhar momentos de alegria e de tristeza durante toda a graduação, agradeço a amizade, ao companheirismo e irmandade.

Aos amigos/irmãos que o CCA me deu, Mateus Guimarães, Wagner Miranda, Michel, Matheus Casimiro, Vinícius Tomé, Fernando Antônio, Thales Santos, Honório, Ceará, Diogo Danilo, Robson Eduardo, Mateus Henrique, Aurélio e João Rafael, pelos momentos de conversas, conselhos e descontração.

A todos os professores que compõem o quadro docente do Centro de Ciências Agrárias, por todo o ensinamento e conhecimento passado para mim. Agradeço aqueles que além de professores, eram amigos, conselheiros e “humanos”.

A todos os servidores e técnicos administrativos que compõem o CCA.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Centro de Ciências Agrárias, pela oportunidade de poder concretizar um sonho.

*“É preciso tentar não sucumbir sob o peso
de nossas angústias, e continuar a lutar.”*

JK. Rowling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Variação de temperatura máxima e mínima durante o experimento. Areia – PB. Novembro/2016 – Março/2017.....	24
Figura 2: Variação da umidade relativa do ar avaliada semanalmente durante 120 dias. Areia – PB. Novembro/2016 – Março/2017.....	25
Figura 3: Taxa de sobrevivência das plantas após 120 dias de aclimatização. T1=PC, T2=BCAC, T3=ME, T4=PC, T5=BCAC, T6=ME, T7=PC, T8=BCAC, T9=ME, T10=PC, T11=BCAC e T12=ME. Areia – PB, 2018.....	27
Figura 4: Variável Diâmetro do caule (DC) de <i>E. cinnabarinum</i> . após 120 dias de aclimatização nos substratos pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) e musgo esfagno (ME). Areia – PB, 2018.....	29
Figura 5: Variável Diâmetro do caule (DC) de <i>E. cinnabarinum</i> após 120 dias de aclimatização. Pó de coco (PC) em 40g.L ⁻¹ de sacarose (A); Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 20g.L ⁻¹ e 40g.L ⁻¹ de sacarose (B) Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 40g.L ⁻¹ de sacarose (C) e musgo esfagno (ME) em 40g.L ⁻¹ de sacarose (D). Areia – PB, 2018.....	29
Figura 6: Número de folhas (NF) de <i>E. cinnabarinum</i> . após 120 dias de aclimatização nos substratos pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) e musgo esfagno (ME). Areia – PB, 2018.....	30
Figura 7: Variável número de folhas (NF) de <i>E. cinnabarinum</i> após 120 dias de aclimatização. Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 20g.L ⁻¹ de sacarose (A); Pó de coco (PC) em 40g.L ⁻¹ de sacarose (B); Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 30g.L ⁻¹ de sacarose (C); Musgo esfagno (ME) em 10g.L ⁻¹ (D) e musgo esfagno (ME) em 20g.L ⁻¹ de sacarose (E). Areia – PB, 2018.....	31
Figura 8: Número de raiz (NR) de <i>E. cinnabarinum</i> . após 120 dias de aclimatização nos substratos pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) e musgo esfagno (ME). Areia – PB, 2018.....	32
Figura 9: Variável número de raiz (NR) de <i>E. cinnabarinum</i> após 120 dias de aclimatização. Pó de coco (PC) em 40g.L ⁻¹ de sacarose (A); Bagaço de cana de açúcar carbonizado (BCAC)	

em 20g.L⁻¹ em 30g.L⁻¹ (B); Bagaço de cana de açúcar carbonizado (BCAC) (C) e musgo esfagno (ME) em 40g.L⁻¹ de sacarose (D). Areia – PB, 2018.....32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações de sacarose e substratos utilizados para a constituição dos tratamentos. Areia – PB, 2018.....	22
Tabela 2: Resumo da análise de variância para a variável diâmetro do caule (DC). Areia – PB, 2018.....	27
Tabela 3: Resumo da análise de variância para a variável número de folhas (NF). Areia – PB, 2018.....	28
Tabela 4: Resumo da análise de variância para a variável número de raiz (NR). Areia – PB, 2018.....	28

RESUMO

A espécie objeto desse estudo, *Epidendrum cinnabarinum* Salzm (Orchidaceae), possui belas flores e um alto potencial ornamental, encontrando-se distribuída principalmente na região nordeste do Brasil. Para o cultivo de orquídeas, a utilização de plantas obtidas a partir da técnica de cultivo *in vitro* é tida como a mais eficiente nos dias atuais visando a obtenção de plantas em grande escala, produzidas em espaço e tempo reduzidos, com ótima qualidade fitossanitária. Dentre os componentes no meio de cultura, a sacarose é a fonte de carbono e energia mais utilizada. Neste trabalho, foram utilizadas plantas cultivadas *in vitro* em meios de cultura MS contendo as seguintes concentrações de sacarose: 10g.L⁻¹, 20g.L⁻¹, 30g.L⁻¹ e 40g.L⁻¹. Após aproximadamente dois anos *in vitro*, as plantas foram retiradas dos potes, lavadas e padronizadas de acordo com a sua concentração de sacarose. Para aclimatização, foram utilizados três tipos de substrato para cada concentração de sacarose, sendo eles: pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) e musgo esfagno (ME), totalizando 12 tratamentos (4 concentrações de sacarose x 3 substratos). Após 120 dias de aclimatizadas, as plantas foram avaliadas quanto à taxa de sobrevivência, número de folhas, números de raízes, comprimento de maior raiz, comprimento da parte aérea, diâmetro de caule e comprimento de maior folha. De acordo com as análises estatísticas pelo teste de Tukey a 5%, as variáveis que apresentaram valores significativos, indicam que concentrações mais elevadas de sacarose influenciam positivamente no crescimento e desenvolvimento de *E. cinnabarinum* durante a etapa de aclimatização. Porém, para cada variável, isso muda de acordo com o tipo de substrato a ser utilizado.

Palavras-chave: ornamental, meio de cultura, *ex vitro*.

ABSTRACT

The species of this study, *Epidendrum cinnabarinum* Salzm (Orchidaceae), has beautiful flowers and a high ornamental potential, being distributed mainly in the northeastern region of Brazil. For the cultivation of orchids, the use of plants obtained from the *in vitro* cultivation technique is considered the most efficient nowadays aiming at obtaining large scale plants, produced in space and time reduced, with excellent phytosanitary quality. Among the components in the culture medium, sucrose is the most widely used source of carbon and energy. In this work, plants grown *in vitro* were used in MS culture media containing the following concentrations of sucrose: 10g.L⁻¹, 20g.L⁻¹, 30g.L⁻¹ and 40g.L⁻¹. After 24 months *in vitro*, the plants were removed from the pots, washed and standardized according to their sucrose concentration. For acclimatization, three types of substrate were used for each sucrose concentration: coconut powder (CP), carbonized sugarcane bagasse (CSB) and sphagnum moss (SM), totaling 12 treatments (4 concentrations of sucrose x 3 substrates). After 120 days of acclimatization, the plants were evaluated for survival rate, number of leaves, root numbers, longest root length, shoot length, stem diameter and largest leaf length. According to the statistical analysis by the Tukey test at 5%, the variables that presented significant values indicate that higher concentrations of sucrose positively influence the growth and development of *E. cinnabarinum* during the acclimatization stage. However, for each variable, it changes according to the type of substrate to be used.

Key words: ornamental, culture medium, *ex vitro*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. OBJETIVO GERAL.....	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. Família Orchidaceae	16
3.2. Micropropagação e Cultivo <i>in vitro</i>	17
3.3. Sacarose	17
3.4. Aclimatização e substratos	18
4.1. SUBSTRATOS.....	20
4.1.1. Pó de coco.....	20
4.1.2. Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado.....	20
4.1.3. Musgo esfagno.....	21
5. MATERIAL E METODOS.....	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
7. CONCLUSÕES	33
8. REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

Dentre as principais ornamentais comercializadas, atualmente encontram-se diversas espécies que pertencem a família Orchidaceae. A família compreende cerca de 26.454 espécies distribuídas por todas as regiões do mundo, exceto nas regiões polares (Chase et al., 2015). Contudo, “a maioria das espécies são de origem tropical e subtropical” Williams (1980), com preferência pelas regiões com altitudes superior a 1.200 metros e inferior a 2.000 metros. Segundo Souza e Lorenzi (2005), “no Brasil são relatadas aproximadamente 2.500 espécies distribuídas em 191 gêneros”, das quais várias espécies são utilizadas como ornamental e em trabalhos *in vitro*.

Na família Orchidaceae, o gênero *Epidendrum* constitui um megagênero com mais de 1.400 espécies, sendo considerado o segundo maior gênero da família (CHASE, 2015). A espécie *Epidendrum cinnabarinum* Salzm, possui um grande potencial ornamental, com flores vermelhas e coralíneas, sendo distribuída principalmente na região Nordeste do Brasil.

Graças a grande diversidade de espécies e a capacidade de gerar belos híbridos, as orquídeas vem ganhando espaço no mercado de plantas ornamentais, sendo bastante procuradas pelos consumidores, graças as suas belas flores que se apresentam sob uma grande diversidade de cores, formas e aromas. “A introdução constante de novas cultivares e florações que chegam a durar mais de um mês, estas plantas vêm conquistando a cada dia pessoas que ainda não conheciam as orquídeas e sua importância na horticultura” (KALIMUTHU et al., 2007).

“A propagação *in vitro* de orquídeas se destaca como uma técnica que viabiliza a germinação de sementes, possibilitando a obtenção de grande quantidade de mudas em curto espaço de tempo” (PASQUAL et al., 2011). “Em condições assimbióticas *in vitro*, o índice de germinação chega a quase 100%, para a grande maioria das espécies” (MARTINI et al., 2001), ao contrário do que acontece em condições naturais, segundo Stoutamire (1964) apenas 5% germinam, devido a uma necessária dependência de suas sementes com fungos micorrízicos.

O sucesso de germinação das sementes de orquídeas *in vitro* poderá variar de acordo com alguns fatores, levando em consideração a espécie trabalhada e a composição do meio de cultura utilizado, uma vez que cada espécie reage de maneira diferente de acordo com suas especificidades biológicas. Segundo Silva et al. (2002), “um grande número de fatores complexos influencia a germinação e o crescimento *in vitro* de orquídeas, sendo altamente dependentes da espécie”. Sendo assim, compreender o meio nutritivo ótimo, em relação a

diferentes concentrações de nutrientes, variação do pH, presença de reguladores de crescimento e sacarose, sendo este último, um dos carboidratos mais utilizados nos meios de cultura, é de fundamental importância para se ter o desenvolvimento desejado do vegetal *in vitro*. “A sacarose é um componente muito importante, servindo como fonte de carbono e energia” (FARIA et al., 2004). Além disso, as concentrações de sacarose ideais irão variar de acordo com as exigências de cada espécie, onde algumas irão necessitar de uma menor ou maior concentração de sacarose para o seu bom desenvolvimento *in vitro*, influenciando diretamente no sucesso da aclimatização.

Após as plantas serem estabelecidas em condições *in vitro*, elas precisam ser retiradas dos potes, higienizadas sob água corrente e envasadas, mas para isso, é preciso que as plantas passem por um processo de aclimatização. “Esse processo consiste de modificações morfo-anatômico-fisiológicas necessárias às plantas para que possam sobreviver em um novo ambiente” (CARVALHO et al., 1999). Sendo assim, essa passagem de um ambiente totalmente estéril e favorável *in vitro*, para um ambiente parcialmente controlado em telado *ex vitro*, é considerado como o momento mais crítico do cultivo, e para o sucesso da aclimatização, segundo Moraes et al. (2002), é necessário que a plântula em aclimatização esteja em um substrato que lhe propicie boas condições para seu melhor desenvolvimento. Para Faria (2010), “um bom substrato é aquele capaz de apresentar características satisfatórias quanto ao mecanismo hídrico, aeração, permeabilidade, pH e retenção de nutrientes”.

Os substratos utilizados para a produção de mudas de orquídeas são dos mais diversos, sendo a sua utilização na forma de mistura ou não, além disso, a sua escolha deve estar de acordo com as exigências de cada espécie. A necessidade de tratamentos com substratos diversos é necessária, e além disso, “o substrato deve estar disponível em quantidade suficiente e apresentar custo acessível, de modo a não comprometer o valor final das mudas produzidas” (SILVA & SILVA, 1997).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Determinar a influência da sacarose no crescimento e desenvolvimento de plantas da espécie *E. cinnabarinum* (Orchidaceae) provenientes do cultivo *in vitro*, em diferentes substratos na aclimatização.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a influência das concentrações de sacarose no desenvolvimento das plantas na fase de aclimatização;
- Relacionar as diferentes concentrações de sacarose com os diferentes substratos;
- Obter a melhor concentração de sacarose e o melhor substrato para a aclimatização de *E. cinnabarinum*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Família Orchidaceae

A família Orchidaceae é considerada como sendo uma das maiores famílias de angiospermas, constituída por cerca de 735 gêneros e 26.454 espécies distintas (CHASE et al., 2015). Diante da grande diversidade de espécies, elas podem ocorrer em uma grande diversidade de habitats (MILLER; WARREN, 1996). Diferente do que muitos pensam, as orquídeas não são parasitas, pois não se alimentam do hospedeiro e apenas os utilizam para fins de fixação.

Dentre a grande diversidade de orquídeas, a *E cinnabarinum*, espécie “endêmica da Região Nordeste do Brasil” (BARROS et al., 2015), possui flores com um grande potencial ornamental para ser inserida no mercado de plantas e flores ornamentais. A espécie ocorre especialmente nas regiões litorâneas dos Estados da Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande Norte (BARROS et al., 2016). É uma espécie de hábito terrestre ou saxícola, possui um longo caule com folhas dísticas, suas flores podem ser vermelhas, alaranjadas, salmão, coralíneas e labelo de margem longamente fimbriada. Vegetativamente é bastante similar a *Epidendrum secundum* Jacq, porém, a presença de flores maiores, geralmente vermelhas e com labelo fimbriado, permite diferenciar as espécies (PABST & DUNGS, 1975).

Além dessa espécie ocorrer em regiões litorâneas de maneira mais ou menos contínua, também ocorre em inselbergues localizados nos Estados da Paraíba e Pernambuco (PINHEIRO et al., 2014). Segundo Almeida et al. (2007), a espécie ocorre em inselbergues da Paraíba nos municípios de Esperança, Serraria e Fagundes. Graças a exuberância das orquídeas com as suas belas flores bastante atrativas para maioria dos olhares, o extrativismo excessivo faz com que diversas espécies dessa família entrem cada vez mais para a lista de espécies ameaçadas de extinção (SCHNEIDERS et al., 2012).

Diferente do que muitos imaginam, as orquídeas não são utilizadas no mercado apenas para fins ornamentais, além desse aspecto, “alguns gêneros fornecem produtos alimentícios, como a baunilha, (espécies do gênero *Vanilla*), medicinais e outros produtos utilizados na indústria” (HOEHNE, 1949).

As espécies de orquídeas, possuem caracteristicamente sementes numerosas, pequenas e praticamente destituídas de substâncias nutritivas (PABST & DUNGS, 1975). Em trabalho realizado por Pereira et al. (2015), foi estimado um número de 33.000 e 57.000 sementes para

as espécies *Polystachya estrellensis* Reichb e *Spathoglottis Plicata* respectivamente. Por essa razão, a germinação dessas sementes em condições naturais é pouco eficiente, chegando ao máximo em 5% (STOUTAMIRE, 1964). Isso ocorre devido ao fato das sementes de orquídeas conterem poucas reservas de lipídios e proteínas, sendo obrigatória a associação simbiótica com um fungo micorrízico compatível, para o fornecimento de carboidratos simples necessários à germinação, para o início do crescimento e a nutrição das plântulas sobre o substrato (BOLDRINI et al., 2010).

3.2. Micropropagação e Cultivo *in vitro*

A micropropagação baseia-se no princípio da totipotencialidade das células reproduzirem uma planta inteira (TORRES et al., 1999) sendo entendida como uma forma de reprodução assexuada. Porém, esse método não se restringe apenas a esse princípio, sendo bastante utilizado também para germinação de sementes de espécies que apresentam dificuldades na germinação em condições naturais (PASQUAL et al., 1998), como é o caso das orquídeas.

A cultura assimbiótica ou semeadura *in vitro*, de orquídeas, é uma técnica que permite a obtenção de uma grande quantidade de plantas, sendo assim, possui uma grande importância econômica, e além disso, a técnica permite o cultivo de espécies que se encontram na lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção. Ou seja, é uma técnica que se torna relevante tanto pelo ponto de vista comercial bem como pelo ponto de vista ecológico. Portanto, plantas produzidas dessa forma, são uma ótima opção para programas de reintrodução de espécies nativas em áreas de preservação ambiental (MARTINI et al., 2011). Sendo assim, a utilização da técnica do cultivo *in vitro* de orquídeas a partir de sementes é uma alternativa viável para a obtenção de mudas em condições controladas, visando o abastecimento do mercado e a preservação de espécies ameaçadas de extinção (HERMANN, 2011).

3.3. Sacarose

São diversos os trabalhos nos quais utilizam a sacarose como a principal fonte de carbono na composição do meio de cultura, uma vez que sob condições *in vitro*, o vegetal encontra-se em desenvolvimento heterofítico, e tem à disposição todos os nutrientes necessários para a biossíntese de substâncias para o seu desenvolvimento. Além disso, a concentração de sacarose no meio de cultura irá variar de acordo com as especificidades biológicas de cada espécie.

Segundo Hazarika (2003), o suprimento exógeno de açúcar pode ampliar as reservas de amido e sacarose nas plantas micropropagadas e favorecer a aclimatização *ex vitro* bem como acelerar as adaptações fisiológicas. No entanto, os explantes podem apresentar fotossíntese reduzida, provavelmente devido à presença de suficiente fonte de energia para outras atividades metabólicas (ROLLAND et al., 2002).

Em trabalho realizado por Pivetta et al. (2010), afirmam que a utilização de diferentes concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* é de grande importância, uma vez que é interessante estudar a curva de resposta para diversas espécies em função desse aumento, ou seja, “embora a maioria dos meios de cultivo utilizados para Orchidaceae sejam suplementados com carboidratos, a sua concentração ainda é fonte de estudo (LEMES, 2016).

3.4. Aclimatização e substratos

A aclimatização é o momento em que a planta é retirada de um ambiente totalmente controlado sob desenvolvimento heterofítico, passando por várias etapas que permitem que a mesma se adapte de maneira gradativa ao seu novo ambiente, sendo agora, estimulada ao desenvolvimento autotrófico. É considerado como sendo o momento mais crítico da produção de mudas obtidas através do cultivo *in vitro*, uma vez que nessas condições, os vegetais “apresentam características morfofisiológicas diferentes quando comparadas àquelas que cresceram diretamente no campo ou em casa de vegetação, fator responsável pela sua baixa taxa de sobrevivência *ex vitro*” (PREECE; SUTTER, 1991). Esta fase é muito delicada, não só porque representa um estresse para a plântula, mas também, pelo perigo de infecções por fungos e bactérias que podem se desenvolver neste estágio (TOMBOLATO; COSTA, 1998).

São diversos os trabalhos que aborda o tema aclimatização de espécies de orquídeas cultivadas *in vitro* (COLOMBO et al., 2005; STEFANELLO et al., 2009; ZANDONÁ et al., 2014; VILLA et al., 2015). Além disso, outros trabalhos utilizam a aclimatização como uma estratégia para devolver plantas a seu habitat natural, quando essas correm risco de extinção (DORNELLES & TREVELIN, 2012; MELO et al., 2014; ENDRES JÚNIOR et al., 2015). Esses trabalhos buscam testar substratos alternativos, ou mesmo, testar a influência dos componentes que faziam parte do meio de cultura durante a fase ainda *in vitro* durante a fase de aclimatização. Para *Cattleya labiata*, após a germinação de suas sementes *in vitro* e transferência das plântulas para um meio de cultura sem a adição de sacarose, observou-se que houve crescimento da parte aérea e do sistema radicular das mesmas. Essa estratégia

proporcionou uma maior porcentagem de sobrevivência durante a fase de aclimatização (CORRERIA et al., 2012). Já em trabalho realizado por Lone et al. (2008), foram testados substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno, onde observou-se que a fibra de coco e a mistura de casca de pínus e fibra de coco nas proporções de 1:1 (v/v) foram os mais indicados para o cultivo de *Cattleya intermedia*, durante a etapa de aclimatização. Assim como para Stefanello et al. (2009), observou que substratos a base de fibra de coco e a casca de pinus, foram os mais indicados para o cultivo de *Miltonia flavesceus* propagadas *in vitro*. Para *Miltonia regnellii* Rchb. f. X *Oncidium concolor* Hook. Yamamoto et al. (2009), concluíram que o pó de coco, pó de bagaço de cana-de-açúcar puro ou na mistura em proporções iguais com outros materiais como: isopor picado, casca de pínus e o pó do coco podem ser utilizados em substituição ao xaxim. Já para as espécies *Oncidium sarcodes* e *Shomburgkia crispa* obtidas *in vitro*, os melhores substratos foram aqueles a base de carvão + vermiculita, apresentando bons resultados no crescimento dessas plantas durante a fase de aclimatização (REGO et al., 2000).

Sendo assim, durante a fase de aclimatização, a escolha do substrato é fundamental para que as plantas oriundas do cultivo *in vitro* obtenham sucesso no seu crescimento e desenvolvimento (FRANZON et al., 2006). Tendo em vista que os substratos disponíveis são dos mais diversos, a sua escolha pode se tornar difícil variando muito entre as diversas espécies de plantas, inclusive entre as espécies de orquídeas. Sendo assim, durante a fase de aclimatização das orquídeas, torna-se necessária a utilização de substratos que permitam o estabelecimento vegetativo das plântulas obtidas *in vitro* (COLOMBO et al., 2005). O substrato é a base de uma boa cultura de orquídea; é o suporte para as plantas, devendo apresentar qualidades básicas e indispensáveis, como: consistência para suporte, boa aeração das raízes e capacidade de retenção de água, sem provocar encharcamento (SILVA & SILVA, 1997).

A utilização de substratos alternativos é uma ótima via para a substituição do xaxim (*Dicksonia sellowiana* Hook), espécie ameaçada de extinção e tradicionalmente utilizada pelos orquidófilos como substrato para o cultivo de orquídeas (DEMATTÊ; DEMATTÊ, 1996; LORENZI; SOUSA, 1996; TORTATO, 1998; STANCATO et al., 1999).

4.1. SUBSTRATOS

4.1.1. Pó de coco

Entre os inúmeros substratos que podem ser utilizados na aclimatização de orquídeas, entre eles, temos o pó de coco, “é um material vegetal natural, renovável, muito leve e bastante parecido com as melhores turfas de *Sphagnum*, encontradas no Norte da Europa e América do Norte” (ROSA et al., 2002). Tem sido utilizado como substrato para a formação de mudas, por apresentar uma estrutura física que proporciona alta porosidade e alto potencial de retenção de umidade. Por ser biodegradável, é utilizado não apenas na sua forma de pó, mas também como fibras, sendo bastante indicado para a germinação de sementes, propagação de plantas e de estacas herbáceas e lenhosas (BARBOSA & LOPES, 2007; ROSA et al., 2001; CARRIJO; LIZ; MAKISHIMA, 2002).

Sendo assim, o pó de coco como substrato na aclimatização e produção de mudas, pode ser uma ótima alternativa em relação a utilização de outros substratos. Além disso, são diversos os trabalhos que testam e recomendam a utilização desse substrato para aclimatização de orquídeas, seja ele associado a outros substratos ou não.

4.1.2. Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado

Sabe-se que para produção de plantas em grande escala, é necessário que o substrato seja disponível em grandes proporções, e além disso, deve apresentar preço acessível para que não comprometa o valor final das mudas obtidas na produção.

Tendo em vista que o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar no mundo, a utilização da matéria prima gerada após a retirada do caldo da cana, pode ser considerada como uma ótima alternativa para a produção de substratos que podem ser utilizados na produção de plantas e flores ornamentais. “Entre os resíduos agroindustriais com alto potencial de utilização na produção de mudas de espécies vegetais, encontra-se o bagaço de cana-de-açúcar” (BARROSO et al., 1998).

São escassas informações na literatura com relação a carbonização do bagaço da cana-de-açúcar, porém, essa prática já vem sendo empregada na casca de arroz, sendo um produto final bastante utilizado para a produção de mudas. A casca de arroz carbonizada é extremamente leve, estéreo, de fácil manuseio, possuindo alta porosidade, boa aeração e baixa capacidade de

retenção de água, sendo associado a outros substratos menos porosos para que aumente a porosidade e drenagem (WENDLING; GATTO, 2012).

4.1.3. Musgo esfagno

Graças as características de reter bastante umidade, cerca de “10 a 20 vezes o peso original” (CASTRO; SILVEIRA, 2003), o musgo esfagno geralmente é encontrado na beira dos rios, sendo considerado como um dos principais substratos atualmente utilizados pelos orquidófilos para aclimatização e cultivo de suas orquídeas. Além disso, assim como o xaxim, o esfagno encontra-se atualmente em risco de extinção, sendo a sua coleta proibida pelo Ibama (SOUZA, 2003).

5. MATERIAL E METODOS

O experimento foi desenvolvido entre os meses de novembro de 2016 e março de 2017, no Laboratório de Biologia Celular e Cultura de Tecidos Vegetais e em telado, pertencentes ao Departamento de Ciências Biológicas no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (DCB/CCA/UFPB), Areia/Paraíba Brasil.

As plantas de *E cinnabarinum* utilizadas no experimento, foram disponibilizadas pelo Laboratório, obtidas a partir da semeadura *in vitro* em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), mantidas em diferentes concentrações de sacarose, sendo elas, 10g.L⁻¹, 20g.L⁻¹, 30g.L⁻¹ e 40g.L⁻¹ de sacarose.

Após 24 meses em condições *in vitro*, as plantas foram retiradas dos potes, lavadas sob água corrente e transferidas para recipientes de plástico transparentes com capacidade de 200ml, contendo diversos substratos que compunham os tratamentos (Tabela 1). Não foi utilizado proporção entre os substratos.

Tabela 1: Concentrações de sacarose e substratos utilizados para a constituição dos tratamentos. Areia – PB, 2018.

Tratamentos	Concentrações de sacarose/g.L ⁻¹	Substratos
1	10	Pó de coco (PC)
2	10	Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC)
3	10	Musgo Esfagno (ME)
4	20	Pó de coco (PC)
5	20	Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC)
6	20	Musgo Esfagno (ME)
7	30	Pó de coco (PC)
8	30	Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC)
9	30	Musgo Esfagno (ME)
10	40	Pó de coco (PC)
11	40	Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC)
12	40	Musgo Esfagno (ME)

Para preparação do substrato bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC), foi utilizada a metodologia de Kämpf (2000) utilizada para carbonização da palha de arroz, sendo adaptada para carbonização do bagaço de cana-de-açúcar.

O tamanho das plantas foi padronizado dentro de cada tratamento para a fase de aclimatização, uma vez que o desenvolvimento das plantas em condições *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose resultou em plantas com tamanho não uniforme. Sendo assim, para as concentrações de 10g.L⁻¹, 20g.L⁻¹, 30g.L⁻¹ e 40g.L⁻¹ de sacarose, foram padronizadas plantas com média de 3,9cm, 5,2cm, 6,3cm e 6,3cm de comprimento respectivamente.

Os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento por uma semana, com os recipientes ainda vedados, feitos furos em suas tampas para minimizar a umidade, simulando assim, uma câmara húmida. Em seguida, os vasos foram transferidos para sala ambiente (sem luz artificial e sem temperatura controlada) por uma semana. Nesses ambientes, todos os tratamentos receberam duas regas por semana, sendo 3mL de água destilada para cada vaso. Após isso, os vasos tiveram suas tampas removidas e foram transferidos para telado sob tela sombrite com 70% de retenção de luminosidade. Semanalmente foram aferidas a temperatura com auxílio de termômetro de mercúrio e para humidade relativa do ar os termômetros de bulbo seco e úmido.

Em telado, as regas foram feitas com borrifador duas vezes por semana e de maneira alternada, sendo uma vez com água destilada acrescido de 2ml.L⁻¹ de adubo foliar comercial 5-10-6 + micronutrientes (Aminomax) e outra apenas com água destilada, sendo 15mL para cada vaso.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos formados pelas plantas oriundas do cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, sendo 12 tratamentos, com 10 repetições e 3 plantas por parcela, totalizando 360 plantas.

Aos 120 dias de aclimatização as plântulas foram avaliadas quanto à taxa de sobrevivência, número de folhas, números de raízes, comprimento de maior raiz, comprimento da parte aérea, diâmetro de caule e comprimento de maior folha. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico SAS 9.2 (2010).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do experimento, as plantas foram mantidas em telado, com variação semanal de temperatura, oscilando entre máxima de 38°C e mínima de 19°C, com média de 25°C (Figura 1). Segundo Muller et al. (2007) a temperatura ideal para a aclimação de orquídeas é de 25°C, observa-se que a temperatura média em que as plantas estavam dispostas ao longo do experimento, ficou próximo a esse valor.

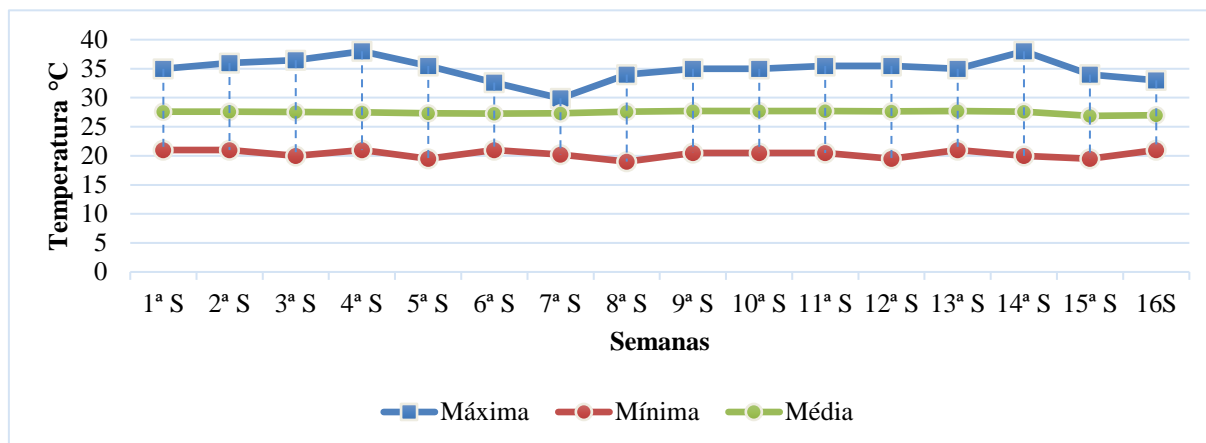


Figura 1: Variação de temperatura máxima e mínima durante o experimento. Areia – PB. Novembro/2016 – Março/2017.

Define-se a umidade relativa do ar como sendo “a quantidade de água existente no ar (umidade absoluta) e a quantidade máxima que poderia haver na mesma temperatura (ponto de saturação)” (BSCS/INEC, 1970). Verifica-se na Figura 2, os valores de umidade relativa do ar, observa-se variação entre 39% e 73% ao longo do experimento. Em trabalho realizado por Meurer (2008), observou-se que espécies do gênero *Cattleya* necessitam de umidade relativa entre 50% e 90% cultivadas em ambiente com temperaturas que variam entre 20°C a 35°C. Já para o gênero *Vanda* é necessário que as plantas sejam acondicionadas em ambiente com umidade relativa entre 40% e 45% e uma temperatura variável entre 15°C a 28°C. Sendo assim, cada espécie necessita de umidade e temperaturas específicas para o seu cultivo. Além disso, essas condições variam de acordo com a região e local onde as plantas serão cultivadas.

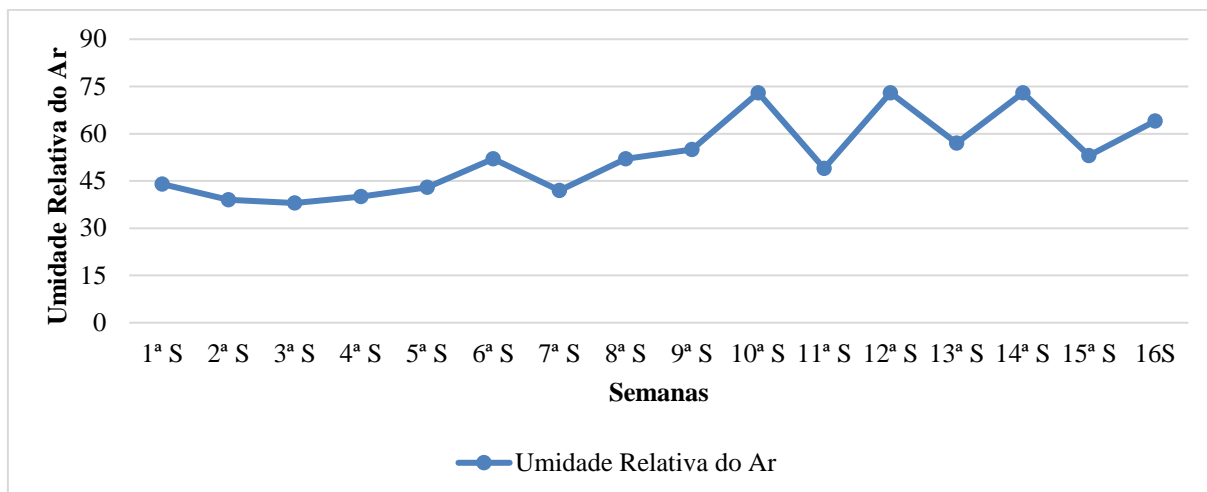


Figura 2: Variação da umidade relativa do ar avaliada semanalmente durante 120 dias. Areia – PB. Novembro/2016 – Março/2017.

Quanto a taxa de sobrevivência, os resultados obtidos comprovam que as orquídeas da espécie *E. cinnabarinum* micropropagadas e cultivadas em meio de cultura contendo 20g.L⁻¹, 30g.L⁻¹ e 40g.L⁻¹ de sacarose apresentaram um maior percentual na taxa de sobrevivência quando comparadas com aquelas provenientes do meio de cultura contendo 10g.L⁻¹ de sacarose. Porém, o sucesso na taxa de sobrevivência variou de acordo com o tipo de substrato utilizado durante esse processo (Figura 3).

Após 120 dias, foi observado que o maior percentual de plantas vivas ocorreu no substrato pó de coco (PC) nas orquídeas micropropagadas com 40 g.L⁻¹ de sacarose, com 90% de sobrevivência. Para o mesmo substrato, diferindo apenas a concentração de sacarose, sendo 10g.L⁻¹, 20g.L⁻¹ e 30 g.L⁻¹, foi obtido um percentual inferior, sendo 26,7%, 40% e 50% de plantas vivas respectivamente nesses tratamentos (Figura 3). Em trabalho realizado por Muller, et al. (2007), que tinha como objetivo avaliar a influência de diferentes meios de cultura na aclimatização de *Miltonia flavescens* Lindl. (Orquidaceae) utilizando diferentes tipos de substratos, o pó de coco também se destacou como sendo o substrato mais indicado durante a aclimatização, resultando em uma taxa de sobrevivência final com um sucesso de 87,6% de plantas vivas cultivadas previamente em meio de cultura contendo 30 g.L⁻¹ de sacarose. A utilização de derivados do coco como substrato por Torres et al. (2010), na aclimatização de *Cattleya labiata* Lindl, também se apresentou como sendo o melhor substrato, apresentando um percentual de 80% na taxa de sobrevivência, porém, nesse caso, foram utilizadas plantas micropropagadas *in vitro* em meio de cultura contendo 20g.L⁻¹ de sacarose. Resultados inversos foram obtidos por Takane (2002), sendo observado que para a aclimatização e desenvolvimento

inicial de plântulas de *Oncidium varicosum* Lindl & Paxton, teores de 40g.L⁻¹ de sacarose se apresentaram pouco eficientes na taxa de sobrevivência.

Podemos atribuir o sucesso na taxa de sobrevivência com a utilização do substrato pó de coco, devido as suas boas propriedades, com estrutura física vantajosa, o qual proporciona alta porosidade, um alto potencial de retenção de umidade e também por ser biodegradável (ROSA, et al., 2001). Além disso, a utilização de teores elevados de sacarose, nesse caso 40g.L⁻¹ no meio cultura, permitiu que houvesse sucesso durante a fase de aclimatização. O fornecimento exógeno de açúcares durante o cultivo *in vitro*, pode aumentar as reservas de amido e sacarose nas plantas, de modo que possa favorecer na etapa *ex vitro* de aclimatização, bem como acelerar as adaptações fisiológicas da planta (HAZARIKA, 2003).

O substrato que proporcionou a segunda melhor taxa de sobrevivência foi o bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC), em T5 e T8 apresentaram 83,3% e 80% de plantas vivas respectivamente. Sendo para o primeiro tratamento com plantas cultivadas em 20g.L⁻¹ e o segundo em 30g.L⁻¹ de sacarose. Nos tratamentos que continham o mesmo substrato, T2 (10 g.L⁻¹) e T11 (40g.L⁻¹), diferindo apenas a concentração de sacarose, foi obtido 26,7% e 36,7% de plantas vivas respectivamente (Figura 3). São escassos na literatura trabalhos nos quais utilizam a carbonização no bagaço da cana de açúcar para o mesmo servir como substrato na aclimatização de espécies ornamentais provenientes do cultivo *in vitro*. Porém, em trabalho realizado por Aguiar et al. (1989), na definição do substrato para a produção de mudas de eucalipto em tubetes, os tratamentos que continham o bagaço de cana de açúcar e a palha de arroz, ambos carbonizados, foram os tratamentos que apresentaram resultados que favoreceram a sobrevivência e conferiram às mudas melhor estado de agregação.

Para os tratamentos que continham o musgo esfagno (ME) como substrato, o melhor percentual foi observado em T9, com 50% de plantas vivas previamente micropropagadas em 30g.L⁻¹ de sacarose, e para os demais tratamentos contendo o mesmo substrato diferindo apenas a concentração de sacarose, sendo elas 10g.L⁻¹, 20g.L⁻¹ e 40g.L⁻¹ obteve-se 36,7%, 36,7% e 43,3% de plantas vivas respectivamente (Figura 3). Resultados contrários foram obtidos por Galdino Júnior et al. (2013), ao utilizar como substrato o musgo esfagno na aclimatização de *Cattleya loddigesii*, previamente cultivadas em 20g.L⁻¹ de sacarose, foi obtido aproximadamente 80% de plantas vivas ao término do experimento.

Mesmo o musgo esfagno sendo bastante utilizado pelos orquidófilos, por apresentar características favoráveis para o cultivo de plantas pertencentes a família orquidácea, o mesmo

não obteve relevância quando comparado com os outros substratos nas demais concentrações de sacarose utilizadas quanto à taxa de sobrevivência. Esses resultados podem estar relacionados com a concentração de sacarose utilizada no meio de cultura ou com as exigências fisiológicas da espécie trabalhada.

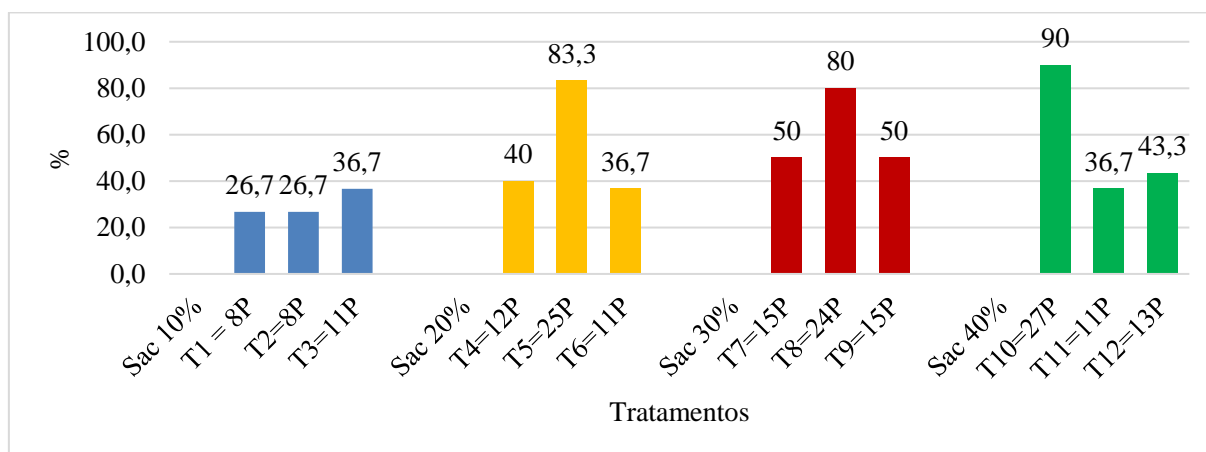


Figura 3: Taxa de sobrevivência das plantas de *E. cinnabarinum* após 120 dias de aclimatização. T1=PC, T2=BCAC, T3=ME, T4=PC, T5=BCAC, T6=ME, T7=PC, T8=BCAC, T9=ME, T10=PC, T11=BCAC e T12=ME. Areia – PB, 2016/2017.

Sendo assim, a percentagem de sobrevivência, comprovam que existe uma forte influência da sacarose e do substrato no sucesso da aclimatização.

Não houve diferença estatística para as variáveis Comprimento da Planta (CP), Comprimento da Maior Folha (CMF), Comprimento da Maior Raiz (CMR) e Diâmetro da Maior Raiz (DMR) para todos os tratamentos avaliados.

Os valores analisados nas Tabelas 2, 3 e 4, indicam que houve interação entre substrato e sacarose para as variáveis diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF) e número de raiz (NR).

Tabela 2: Resumo da análise de variância para a variável diâmetro do caule (DC). Areia – PB, 2018.

Fonte de Variação	GL	QM	Pr>F
Substrato	2	0.00001251	0.9531ns
Sacarose	3	0.00304887	<.0001*
Substrato*Sacarose	6	0.00080633	0.0087*

*Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns Não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3: Resumo da análise de variância para a variável número de folhas (NF). Areia – PB, 2018.

Fonte de Variação	GL	QM	Pr>F
Substrato	2	12.858	0.07553ns
Sacarose	3	3.675	0.5205ns
Substrato*Sacarose	6	21.358	0.0005*

*Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns Não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4: Resumo da análise de variância para a variável número de raiz (NR). Areia – PB, 2018.

Fonte de Variação	GL	QM	Pr>F
Substrato	2	13.433	0.0124*
Sacarose	3	9.808	0.0221*
Substrato*Sacarose	6	10.366	0.0032*

*Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ns Não significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a variável diâmetro do caule (DC) observado na Figura 4, o melhor resultado ocorreu com a utilização do substrato pó de coco (PC) na concentração de 40g.L⁻¹ de sacarose, com uma média de 0,14cm de espessura (Figura 5 A). Todavia, para esse substrato, à medida que aumentou a concentração de sacarose, foi observado um aumento na espessura para essa variável, caracterizando assim, um efeito quadrático. Para o substrato bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC), as melhores médias foram encontradas nas concentrações de 20g.L⁻¹ (Figura 5 B) e 40g.L⁻¹ (Figura 5 C) de sacarose com 0,12cm de espessura para ambas, e para o substrato musgo esfagno (ME), a melhor média foi encontrada em 40g.L⁻¹ de sacarose, com 0,13cm de espessura (Figura 5 D).

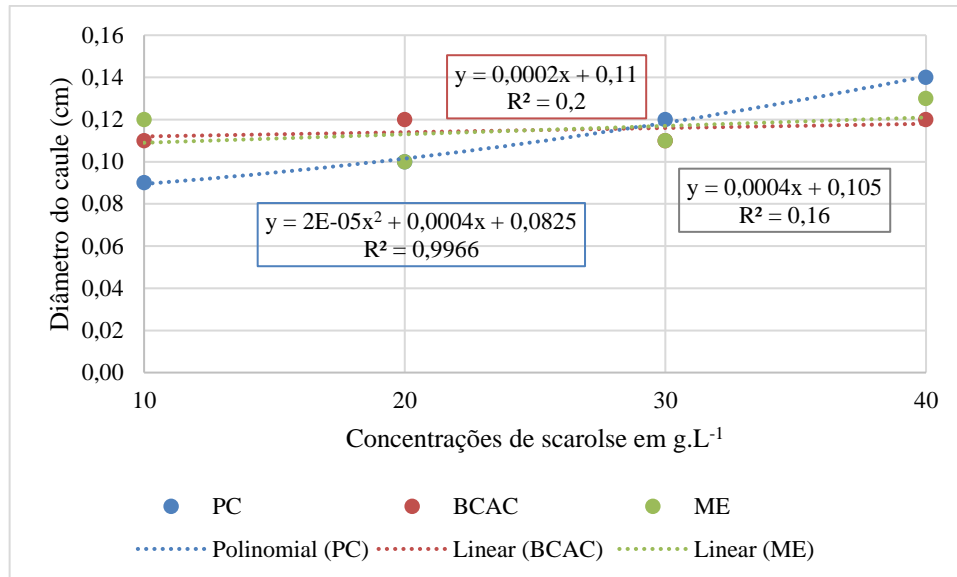


Figura 4: Variável Diâmetro do caule (DC) de *E. cinnabarinum* após 120 dias de aclimatização nos substratos pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) e musgo esfagno (ME). Areia – PB, 2018.

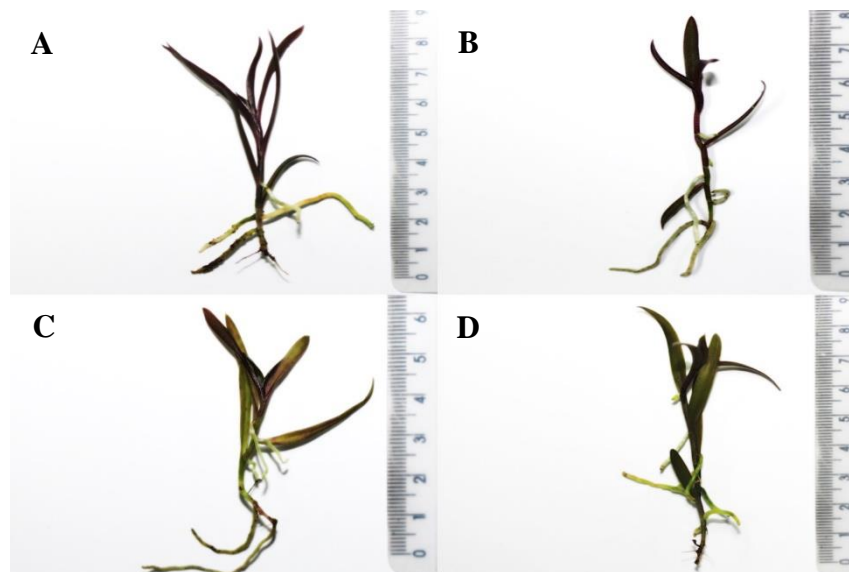


Figura 5: Variável Diâmetro do caule (DC) de *E. cinnabarinum* após 120 dias de aclimatização. Pó de coco (PC) em 40g.L⁻¹ de sacarose (A); Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 20g.L⁻¹ e 40g.L⁻¹ de sacarose (B) Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 40g.L⁻¹ de sacarose (C) e musgo esfagno (ME) em 40g.L⁻¹ de sacarose (D). Areia – PB, 2018.

Os resultados obtidos para a variável número de folhas (NF) observados na Figura 6, demonstram que o substrato bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC), foi o que proporcionou o melhor resultado, com média de 5,60 na concentração de 20g.L⁻¹ de sacarose (Figura 7 A), sendo observado um efeito quadrático, ocorrendo um decréscimo do número de folhas a partir da concentração de 30g.L⁻¹ de sacarose. Quando comparado com os melhores

valores para mesma variável, resultados semelhantes foram obtidos por Correia et al. (2012), em mudas de *Cattleya labiata* cultivadas previamente em 30g.L⁻¹ de sacarose e aclimatizadas em casca de arroz carbonizada, pó da casca do coco-verde e fibra da casca do coco-verde (3:3:1 v/v), onde foi obtido uma média de 5,22 após 150 dias de aclimatização.

A presença de um maior número de folhas, é uma característica extremamente importante, uma vez que essas proporcionam maiores chances de sobrevivência de mudas em campo (MOREIRA, et al., 2006). Se comparados os valores da Figura 6 com os valores da Figura 3, pode-se observar que a afirmação é verdadeira, onde para os substratos pó de coco (PC) na concentração de 40g.L⁻¹ de sacarose com média de 5,40 (Figura 7 B) e bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) nas concentrações de 20 g.L⁻¹ e 30g.L⁻¹ de sacarose com 5,60 (Figura 7 A) e 5,50 (Figura 7 C) respectivamente, foram observados os melhores resultados quanto a taxa de sobrevivência. Porém, essa afirmação não é regra e existem exceções que podem ser observadas neste trabalho, uma vez que para o substrato musgo esfagno (ME) nas concentrações de 10g.L⁻¹ e 20g.L⁻¹ de sacarose, com médias de 5,40 (Figura 7 D) e 5,50 (Figura 7 E) respectivamente, valores bem próximos a melhor média obtida para essa variável, não foi o suficiente para proporcionar uma boa taxa de sobrevivência, resultando em apenas 36,7% de plantas vivas para ambas as concentrações de sacarose.

As folhas são estruturas extremamente importantes para planta e permitem a captação de luz sendo responsáveis pela produção de matéria orgânica através da fotossíntese (MOREIRA, et al., 2006).

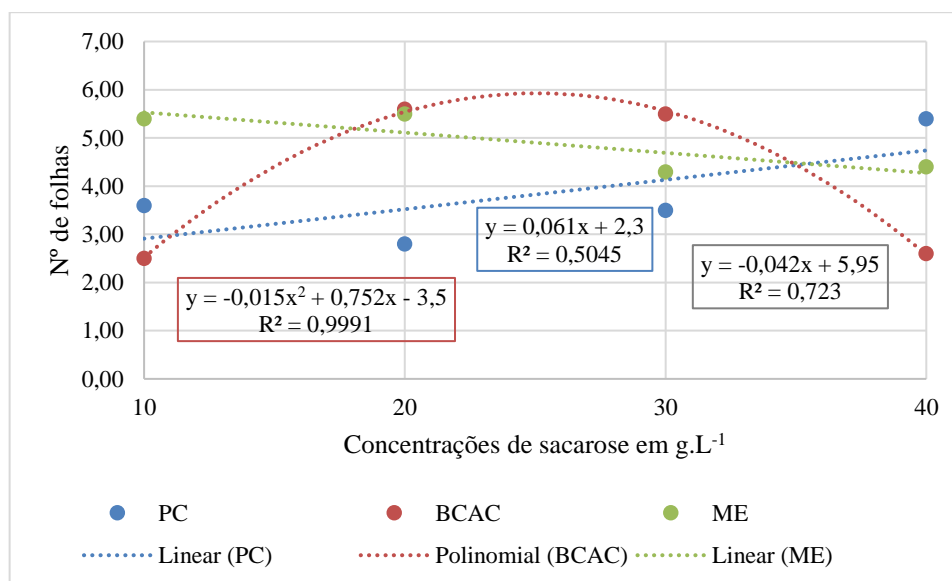


Figura 6: Número de folhas (NF) de *E. cinnabarinum*. após 120 dias de aclimatização nos substratos pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) e musgo esfagno (ME). Areia – PB, 2018.

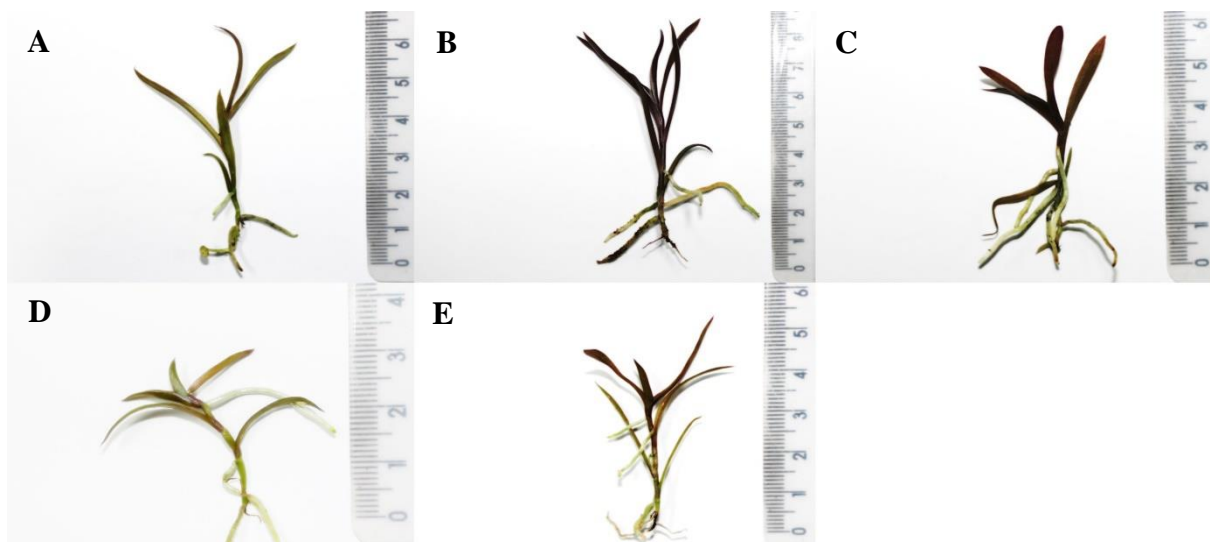


Figura 7: Variável número de folhas (NF) de *E. cinnabarinum* após 120 dias de aclimatização. Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 20g.L⁻¹ de sacarose (A); Pó de coco (PC) em 40g.L⁻¹ de sacarose (B); Bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) em 30g.L⁻¹ de sacarose (C); Musgo esfagno (ME) em 10g.L⁻¹ (D) e musgo esfagno (ME) em 20g.L⁻¹ de sacarose (E). Areia – PB, 2018.

Para variável número de raiz (NR) (Figura 8), a melhor média foi encontrada em 40g.L⁻¹ de sacarose com a utilização do substrato pó de coco (PC) com aproximadamente 4 folhas (Figura 9 A). Foi observado efeito quadrático para o substrato bagaço de cana de açúcar carbonizado (BCAC), com os melhores resultados nas concentrações de 20g.L⁻¹ e 30g.L⁻¹ de sacarose, com 3,3 para ambas (Figura 9 B e C), com decréscimo do número de raízes a partir de 40g.L⁻¹ de sacarose. Já para o substrato musgo esfagno (ME), o melhor valor foi obtido em 40g.L⁻¹ de sacarose com 3,4 (Figura 9 D).

Resultados semelhantes foram obtidos por Correia et al. (2012), em mudas de *Cattleya labiata* cultivadas previamente em 30g.L⁻¹ de sacarose e aclimatizadas em substrato a base de casca de arroz carbonizada, pó da casca do coco-verde e fibra da casca do coco-verde (3:3:1 v/v), com média de 3,63 após 150 dias de aclimatização.

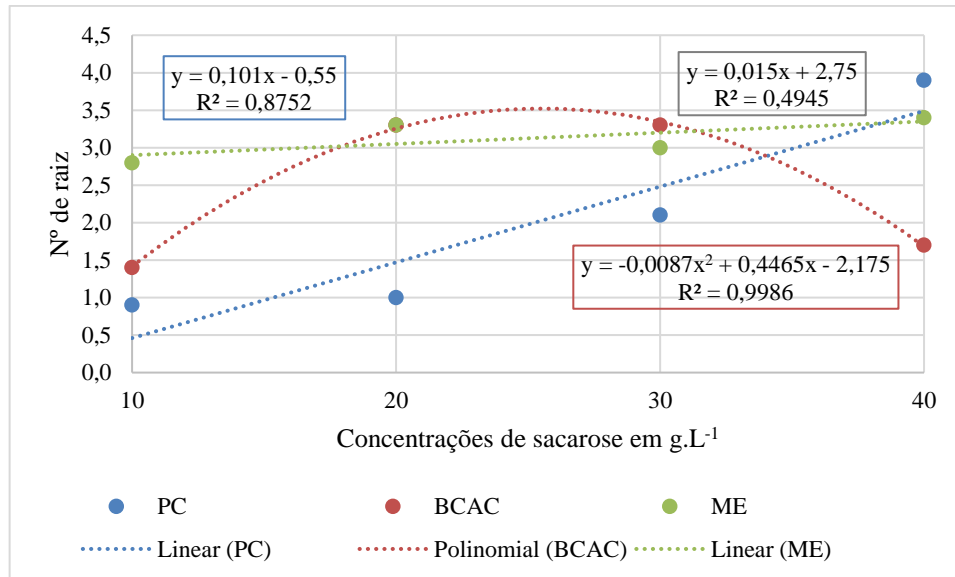


Figura 8: Número de raiz (NR) de *E. cinnabarinum*. após 120 dias de aclimatização nos substratos pó de coco (PC), bagaço de cana-de-açúcar carbonizado e musgo esfagno (ME). Areia – PB, 2018.

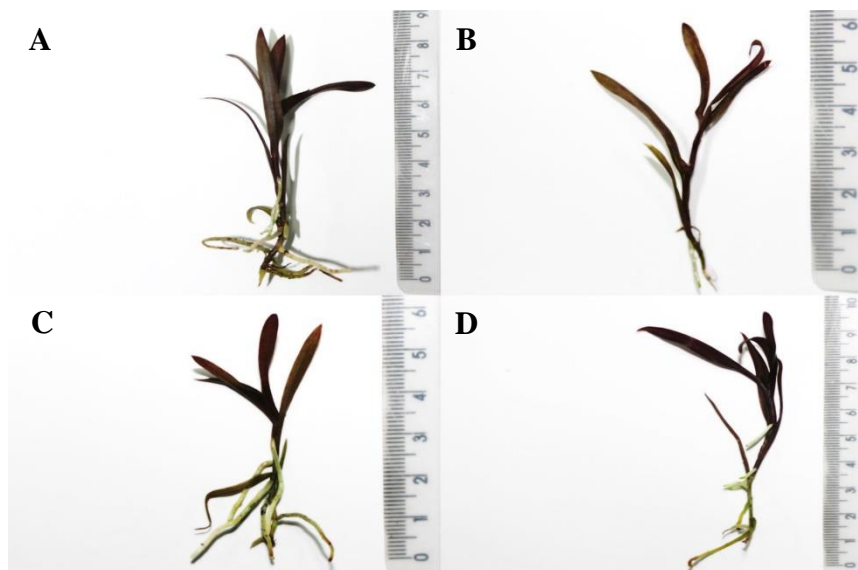


Figura 9: Variável número de raiz (NR) de *E. cinnabarinum* após 120 dias de aclimatização. Pó de coco (PC) em 40g.L⁻¹ de sacarose (A); Bagaço de cana de açúcar carbonizado (BCAC) em 20g.L⁻¹ em 30g.L⁻¹ (B); Bagaço de cana de açúcar carbonizado (BCAC) (C) e musgo esfagno (ME) em 40g.L⁻¹ de sacarose (D). Areia – PB, 2018.

7. CONCLUSÕES

O bagaço de cana-de-açúcar carbonizado (BCAC) apresenta maior sobrevivência de plantas de *E. cinnabarinum* durante a aclimatização quando estas são cultivadas *in vitro* com em 20g.L⁻¹ e 30 g.L⁻¹ de sacarose.

Quanto as variáveis que apresentaram valores significativos, concentrações mais elevadas de sacarose influenciam positivamente no crescimento e desenvolvimento de *E. cinnabarinum* durante a etapa de aclimatização. Porém, para cada variável, isso muda de acordo com o tipo de substrato a ser utilizado.

8. REFERÊNCIAS

- PEREIRA, S. S.; COSTA JÚNIOR, O. D.; SANTOS, L. A.; FELIX, L. P.; COSTA, N. P. estimativa do número médio de sementes encontradas em cápsulas de orquídeas (*Spathoglottis Plicata* e *Polystachya estrellensis* Reichb). II Simpósio brasileiro sobre cultivo de orquídeas, 2., 2015, Jaboticabal. II Simpósio Brasileiro Sobre Cultivo de Orquídeas: Livro de Resumos. Jaboticabal-sp: Unesp/fcav, 2015. 167 p. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/document/338973513/II-SIMBRAORQUI-SIMPOSIO-BRASILEIRO-DE-ORQUIDEAS>>. Acesso em: 22 jan. 2018.
- AGUIAR, I.B.; VALERI, S.V.; BANZATTO, D.A.; CORRADINI, L.; ALVARENGA, S.F. Seleção de componentes de substrato para produção de mudas de eucalipto em tubetes. IPEF, Piracicaba, v.41/ 42, p.36-37, 1989.
- ALMEIDA, A., FELIX, W. J. P., LEONALDO A. A., FELIX, L. P. A família Orchidaceae em inselbergues da Paraíba, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 753-755, jul. 2007.
- BARBOSA, José Geraldo; LOPEZ, Luiz Carlos (Ed.). Propagação de Plantas Ornamentais. Viçosa: UFV, 2007. 183 p.
- BARROS, F. de; VINHOS, F.; RODRIGUES, V.T.; BARBERENA, F.F.V.A.; Fraga, C.N.; Pessoa, E.M.; Forster, W.; Menini Neto, L.; Furtado, S.G.; Nardy, C.; Azevedo, C.O.; Guimarães, L.R.S. 2015 *Orchidaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB11529>>. Acesso em 17 set 2017.
- BARROSO, D. G.; CARNEIRO, J. G. de A.; MARINHO, C. S.; LELES, P. S.; NEVES, J. C. L.; CARVALHO, A. J. C. de. Efeitos da adubação em mudas de sabiá (*Mimosa caesalpieifolia* Benth) e aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) produzidas em substrato constituído por resíduos agroindustriais. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 22, n. 4, p. 433-441, 1998.
- BOLDRINI, R.F., SANTOS, W.O., CRUZ, Z.M.A, RAOS, A.C. (2010) Bases da associação micorrízica orquidoide. *Natureza on line*, 8 (3):140-145.
- BSCS/INEC. Biología. Su enseñanza moderna. Buenos Aires, Editorial Estrada, 1970.
- CARRIJO, O. A.; LIZ, R. S.; MAKISHIMA, N. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 20, n. 4, p. 533-535, 2002.
- CARVALHO, G. R. et al. *Aclimatização de plantas de caféiro (Coffea arabica L.) propagadas "in vitro"*. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.23, n.3, p.483-490, 1999.
- CHASE, M.W., CAMERON, K.N., FREUDENSTEIN, J.V., PRIDGEON, A.M., SALAZAR, G., VAN DENBERG, C. & SCHUITMAN, A. 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 151-174.
- COLOMBO, L. A.; FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; FONSECA, I. C. B. Aclimatização de um híbrido de *Cattleya* em substratos de origem vegetal sob dois sistemas de irrigação. *Acta Sci. Agron.*, Maringá, v. 27, n. 1, p. 145-150, jan./mar. 2005.

CORREIA, D. et al. Otimização da produção de mudas de *Cattleya labiata*: efeito da sacarose no crescimento *in vitro* e na aclimatização. Embrapa Agroindústria Tropical-Circular Técnica (INFOTECA-E). 2012.

CASTRO, Luis Antônio Suita; SILVEIRA, CARLOS AUGUSTO POSSER. Propagação vegetativa do pessegueiro por alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, 2003.

DEBERGH, P. A cultura *in vitro* de plantas ornamentais. In: VASIL, I.K.; THORPE, T. A. (Ed.). Células de plantas e a cultura de tecidos. Dordrecht: Kluwer Academic, 1994. p. 561-573.

DEMATTE, J. B.; DEMATTE, M. E. S. P. Estudos hídricos com substratos vegetais para o cultivo de orquídeas epífitas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.11, p.803-808, 1996.

DORNELES, Liane Terezinha; TREVELIN, Vania. Aclimatização e reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham ex Hook (Orchidaceae) obtidas por propagação *in vitro*. **Iheringia. Série Botânica.**, v. 66, n. 2, p. 167-174, 2012.

ENDRES JÚNIOR, Delio et al. Reintrodução de *Cattleya intermedia* Graham (Orchidaceae) em borda e interior de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 1, 2015.

FARIA, R. T.; ASSIS, A. M.; CARVALHO, J. F. R. P. Cultivo de Orquídeas. Londrina: Mecenas, p. 208, 2010.

HAZARIKA, B.N. 2003. Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Science*, 85: 1704–1712.

HOEHNE, F.C. Iconografia de Orchidaceas do Brasil. Instituto de Botânica de São Paulo. 601 p. 1949.

JÚNIOR, Renato Fernandes Galdiano et al. Concentrações de sacarose no desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley. **Semina: Ciências Agrárias**, p. 583-592, 2013.

KÄMPF, A. N. Produção comercial de plantas ornamentais. Guaíba: 56 Agropecuária, 2000.

LEMES, Camila Soares Rosa et al. Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia flavescens*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3, p. 499-505, 2016.

LONE, Alessandro Borini et al. Aclimatização de *Cattleya* (Orchidaceae), em substratos alternativos ao xaxim e ao esfagno-DOI: 10.4025/actasciagron. v30i4. 5299. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 465-469, 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. Plantas ornamentais do Brasil. Nova Odessa: Plantarum Ltda., 1996. v.1.

MARTINI, P. C.; WILLADINO, L.; ALVES, G. D.; DONATO, V. M. T. (2001) Propagação de orquídea *Gongora quinquenervis* por sementeira in vitro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 36 (10):1319-1324.

_____ et al. Propagação de orquídea *Gongora quinquenervis* por sementeira in vitro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36, n. 10, p. 1319-1324, 2001.

MEURER, F. M.; BARBOSA, C.; ZONETTI, P. C.; MUNHOZ, R. E. F. Avaliação do uso de bagaço de cana-de-açúcar como substrato no cultivo de mudas de orquídeas. *SaBios: Revista Saúde e Biologia*, v.3, n. 2, p. 45-50, Jul./Dez. 2008.

MELO, GISELE JOZINA RESENDE DINIZ et al. Influencia de fungos micorrízicos na aclimação e reintrodução de plântulas de orquídeas do gênero *encyclia* obtidas por propagação in vitro. **V Simpósio de Pesquisa e Inovação/IV Seminário de Iniciação Científica do IF Sudeste MG-Câmpus Barbacena**, v. 1, n. 1, 2014.

MILLER, D.; WARREN, R. Orquídeas do Alto da Serra. Rio de Janeiro: Salamandra Ltda., 1996. v.1.

MORAES, Luciano Marcio; CAVALVANTE, Luiz Carlos Dias; FARIA, Ricardo Tadeu. Substratos para aclimação de *Dendrobium nobile* Lindl.(Orchidaceae) propagadas in vitro. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1397-1400, 2002.

MOREIRA, Maria Aparecida et al. Efeito de substratos na aclimação de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. *Ciência e Agrotecnologia*, p. 875-879, 2006.

MULLER, T. S. et al. Crescimento *in vitro* e aclimação de plântulas de *Miltonia flavescens*. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, p. 252-254, 2007.

MURASHIGE, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15: 473-497, 1962.

PABST, G. F. J. & DUNGS, F. 1975. *Orchidaceae Brasilienses*, vol. 1. Brucke-Verlag Kurt Schmiersow, Hildesheim.

PASQUAL, M. et al. (2011) Influência da qualidade de luz e silício no crescimento *in vitro* de orquídeas nativas e híbridas. *Horticultura Brasileira*, 29:324-329.

_____, HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D. Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações. Introdução – Fundamentos básicos. Lavras-MG:UFLA/FAEPE, 1998. 159 p.

PINHEIRO, F.; COZZOLINO, S.; DRAPER, D.; BARROS, F.; FELIX, L.P.; FAY, M.F.; PALMA-SILVA, C. 2014. Rock outcrop orchids reveal the genetic connectivity and diversity of inselbergs of northeastern Brazil. *BMC Evolutionary Biology*. vol.14, p. 49.

PIVETTA, K. F. L.; MARTINS, T. A.; GALDINO JUNIOR, R. F.; GIMENES, R.; FARIA, R. T. DE; TAKANE, R. J. Crescimento in vitro de plântulas de *Caularthron bicornutum* em diferentes concentrações de sacarose. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.9, p.1897-1902, set, 2010.

PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (Ed.). Micropropagation: technology and application. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 71-93

REGO, L.V. et al. Desenvolvimento vegetativo de genótipos de orquídeas brasileiras em substratos alternativos ao xaxim. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 6, n. ½, p. 75-79, 2000.

ROLLAND, F.; Moore, B.; Sheen, J. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *Plant Cell*, 14: S185-S205.

ROSA M. F.; ABREU FAP; FURTADO, AAL; BRÍGIDO, A.K.L.; NORÕES ERV. Processo agroindustrial: obtenção de pó de casca de coco verde. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 4p. (Comunicado técnico 61), 2001.

_____ et al. Utilização da casca de coco como substrato agrícola. Embrapa Agroindústria Tropical-Docmentos (INFOTECA-E), 2002.

_____, M. F. et al. Caracterização do pó da casca de coco verde usado como substrato agrícola. Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. (Comunicado Técnico, n. 54).

SCHNEIDERS, D.; PESCADOR, R.; BOOZ, M. R.; SUZUKI, R. M. Germinação, crescimento e desenvolvimento in vitro de orquídeas (*Cattleya* spp., Orchidaceae). *Ceres*, Viçosa, v. 59, n.2, p. 185-191, 2012.

SILVA A. L. L da, Franco E. T. H, Gesing JPA. & Pessoa CC (2002) Efeitos de alguns meios de cultura sobre o desenvolvimento in vitro de *Cattleya tigrina* A. Rich. Ex Beer - Orchidaceae. *ABCTP Notícias* 4-7.

SILVA, F. S. C.; SILVA, S. P. C. O substrato na cultura das orquídeas, sua importância, seu envelhecimento. *Revista Oficial da Orquidário*, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 3-10, 1997. SOUZA, M. Muito além do xaxim. *Natureza*, São Paulo, n.2, p.32-37, 2003.

SOUZA, V. C. and Lorenzi, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 640p. 2005.

STANCATO, G. C.; ABREU, M. F.; BERTON, R.; KERBAUY, G. B. Análise de alguns substratos para o cultivo de orquídeas epífitas e avaliação do crescimento em plantas de *Dendrobium nobile* CV. Gilblanc. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 1., 1999, Porto Alegre. Resumos. Porto Alegre, 1999. p.65-66.

TAKANE, R. J. Influência da sacarose e do cloreto de cálcio na aclimação e no crescimento inicial de plântulas de *Oncidium varicosum* Lindl. & Paxton (Orchidaceae) germinadas in vitro. 2002. 79f. 2002. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

STEFANELLO, Suzana et al. Eficiência de substratos na aclimatização de plantas de *Miltonia flavescens* Lindl. propagadas in vitro. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 2, n. 3, p. 467-476, 2009.

TOMBOLATO, A.F.C; COSTA, A.M.M. *Micropropagação de plantas ornamentais*. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. (Boletim Técnico 174).

TORRES, A. C., LINDA, C. S. & FERREIRA, A.T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: A.C. Torres, C.S. Linda & J.A. Buso (eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Embrapa Produção de Informação, Brasília, 1998, pp.11-20.

_____, CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília; EMBRAPA-SPI-CNPq, 1999. V. 1, 509 p.

TORRES, R. A, TAKANE, R. J, CORRÊA, D, INNECO, R. Influência da sacarose na aclimatização de *Cattleya labiata* L. em substrato com diferentes porcentagens de casca de arroz carbonizada e fibra de coco (*Cocus nucifera* L.). In: VII ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTRATOS, 7., Goiania, 2010.

TORTATO, M. A. Cultivo de orquídeas em nó de pinho. Boletim da Coordenadoria das Associações Orquidófitas do Brasil (CAOB), Rio de Janeiro, v.7, n.4, p.118-122, 1998.

VILLA, Fabíola et al. Influência de substratos alternativos na aclimatização de orquídeas. **Ceres**, v. 54, n. 316, 2015.

WENDLING, I.; GATTO, A. Substratos, Adubação e Irrigação da Produção de Mudas. 2. ed. Viçosa-MG: Aprenda Fácil, 2012. 148 p. (Produção de Mudas Ornamentais).

WILLIAMS NH. Taxonomy of Genus *Aspasia* Lindl. (Orchidaceae: Oncidieae). *Brittonia* 1980;26(4):333-46.

YAMAMOTO, Lilian Yukari et al. Substratos alternativos ao xaxim no cultivo do híbrido primário *Miltonia regnellii* Rchb. f. X *Oncidium concolor* Hook. (Orchidaceae). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 30, p. 1035-1042, 2009.

ZANDONÁ, A. P. et al. Substratos alternativos ao esfagno na aclimatização de plântulas de *Arundina graminifolia alba* (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, p. 7-12, 2014.